

Diagnóstico de laboratorio de la Enfermedad de Pompe

DR. CRISTÓBAL COLÓN MEJERAS

Unidad de Diagnóstico y Tratamiento de las Enfermedades Metabólicas Congénitas del Hospital Clínico Universitario de Santiago de Compostela

EL GLUCÓGENO Y SU METABOLISMO

- El glucógeno es la principal vía de almacenamiento de carbohidratos.

<1%

No llega al 1% de la energía almacenada en el organismo, ya que esta es una función del **tejido adiposo**



Es la principal fuente de energía para los **músculos**



Es crucial para la homeostasis, pues es determinante para el **balance glucémico**

¿DÓNDE SE ENCUENTRA EL GLUCÓGENO?

 Hígado (hasta 400g)	 Cerebro, en los astrocitos
 Pulmones fetales, en los neumocitos tipo 2	 Músculo esquelético (hasta 1200g)

LA ENFERMEDAD DE POMPE

La **glucogenólisis tipo II** se produce debido a una **deficiencia enzimática de la alfa-glucosidasa ácida en el lisosoma**, que produce un acúmulo de glucógeno en los lisosomas, lo que da lugar a la **enfermedad de Pompe**.

MEDICIÓN DE LA ACTIVIDAD α -GLUCOSIDASA ÁCIDA MEDIANTE EL TEST DE GOTA SECA

Ventajas de la toma de muestra

- Menos invasiva que la medición mediante fibroblastos o linfocitos
- Fácil de obtener en la consulta médica
- Transporte por correo y a temperatura ambiente
- Gran estabilidad de la muestra

CORRECTO



INCORRECTO



Ventajas de la técnica analítica

- Posibilidad de análisis genético desde la misma muestra de Gota Seca
- Si urge, el resultado está en 2 días
- Preparación sencilla en el laboratorio
- Técnica reproducible
- Requiere poca muestra (importante en neonatos)
- Los casos graves son fácilmente detectables
- Puede ser empleada para cribado neonatal



Una buena toma de la muestra evita falsos negativos



Retraso en el diagnóstico

- El diagnóstico de la enfermedad de Pompe, como todas las EDL, ha sufrido siempre un retraso muy importante en el diagnóstico, llegando a registrarse una media de 4 años en el caso del fenotipo infantil¹ y de casi 10 años en el fenotipo de inicio tardío.²



Validez de la muestra y preservación de la actividad enzimática

El 75% de las veces que una muestra no se considera válida se debe a los siguientes motivos:



OBTENCIÓN

- Mal impregnadas
- Sobreimpregnadas
- Empleo de alcohol



MANIPULACIÓN

- No secar al sol ni con una fuente de calor³
- Efecto "cromatográfico" por secado inadecuado
- Contaminación con heces, bacterias, hongos...

Determinación indirecta de la actividad GAA

Debido a que existen fuertes interferencias en la enfermedad de Pompe, lo más conveniente es hacer una **DETERMINACIÓN INDIRECTA**



- La **GAA** es la enzima que debemos medir y trabaja a pH 3,5-6,0 (zona verde en el gráfico)
- Hay otras enzimas bien identificadas que interfieren:
 - **Dos α -glucosidasas** neutras (N) que se activan a pH 7,0-7,5
 - La **MGA** (color azul oscuro en el gráfico) se activa a pH 3,0-8,0, superponiéndose a todas las anteriores

- **Reproducción de condiciones fisiológicas:** pH 3,9 y 6,5, incubando 24 horas a 37°C
- **Acarbosa:** para inhibir la MGA

SOLUCIÓN

INTERPRETACIÓN DE LA ACTIVIDAD ENZIMÁTICA

ACTIVIDAD GLUCOSIDASA

POSIBLES INTERPRETACIONES

Actividad glucosidasa total baja en medio **ácido**

- Muestra mal impregnada o mal manipulada
- **Posible caso de enfermedad de Pompe, necesidad de confirmación**

Actividad glucosidasa en medio **neutro**

- Muestra mal impregnada o mal manipulada
- **Posible caso de enfermedad de Pompe, necesidad de confirmación**

Actividad glucosidasa **ácida inhibida** baja

- Muestra mal impregnada o mal manipulada
- **Posible caso de enfermedad de Pompe, necesidad de confirmación**

SOSPECHA DE POMPE



>80%

Porcentaje de inhibición por encima del 80%

>20%

Ratio GAA neutra/inhibida por encima de 20%



Confirmación genética de la enfermedad de Pompe

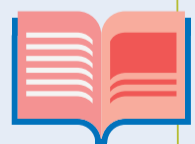
Estudio genético

- **Gen GAA:** brazo largo del cromosoma 17, altamente polimórfico
- Gran número de mutaciones descritas
- Se deben encontrar **dos mutaciones patogénicas**
- **En caso de ver solo 1 mutación, es necesario encontrar actividad GAA reducida en al menos dos tejidos**



Un estudio realizado por la Unidad de Diagnóstico y Tratamiento de las Enfermedades Metabólicas Congénitas del Hospital Clínico Universitario de Santiago de Compostela, que analizó 457 muestras de sangre en gota seca recibidas, **mostró una precisión del 95,3%, una especificidad del 95,2% y una sensibilidad del 100%.**

El 25% de los casos de Pompe diagnosticados en el centro tenían **menos de 1 año** en el momento del diagnóstico y el **50% menos de 5 años**, pero aún hay otro 25% de pacientes que son diagnosticados después de los 40 años.



En caso de sospecha de enfermedad de Pompe, solicitar el kit de DBS en el correo: ES-GNZ-Departamento-Medico@sanofi.com o al delegado de Sanofi Genzyme de la zona.



GSD: glucogenosis; GAA: alfa-glucosidasa ácida; FDA: Food and Drug Administration; EDL: enfermedad de depósito lisosomal; Rx: radiología; RM: resonancia muscular; EKG: electrocardiograma; Eco: ecografía; EMG: electromiografía; CK: creatinina quinasa; AST: aspartato transaminasa; ALT: alanina transaminasa; Glc₄: glucosa tetrasacárido; LDH: lactato deshidrogenasa; MGA: maltas-glucoamilasa; DBS: test de gota seca; GLBI: beta-galactosidasa.

REFERENCIAS:

1. Kishnani PS, et al. A retrospective, multinational, multicenter study on the natural history of infantile-onset Pompe disease. J Pediatr. 2006;148(5):671-676. 2. Winkel LP, et al. The natural course of non-classic Pompe's disease; a review of 225 published cases. J Neurol. 2005;252(8):875-84. 3. Waite KV, et al. Storage conditions and stability of thyrotropin and thyroid hormones on filter paper. Clin Chem. 1987;33(6):853-5.